

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

G-1 論文発表

- 1) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Autologous Human Somatic Stem Cells. Regenerative Therapy 2015 in press.
- 2) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Allogenic Human Somatic Stem Cells. Regenerative Therapy 2015 in press.
- 3) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Autologous Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). Regenerative Therapy 2015 in press.
- 4) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Allogenic Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). Regenerative Therapy 2015 in press.
- 5) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Safety and Quality of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Human Embryonic Stem Cells. Regenerative Therapy 2015 in press.
- 6) Moriyama H, Moriyama M, Isshi H, Ishihara S, Okura H, Ichinose A, Ozawa T, Matsuyama A, Hayakawa T. Role of notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. Stem Cells Dev. 2014 Sep 15;23(18):2211-24.
- 7) Moriyama M, Moriyama H, Uda J, Matsuyama A, Osawa M, Hayakawa T. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. J Invest Dermatol. 2014 Jun;134(6):1627-35.
- 8) Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Inamura M, Ohashi K, Okuno H, Yamaguchi T, Tashiro K, Sakurai F, Hayakawa T, Okano T, Furue MK, Mizuguchi H. CCAAT/enhancer binding protein-mediated regulation of TGF β receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. Development. 2014 Jan;141(1):91-100.
- 9) 早川堯夫： 再生医療と安全性：わが国発の技術の確立に向けて。 Medical Tribun, p.16, 9月4日号 (2014) (株) メディカルトリビーン、東京
- 10) 早川堯夫： 再生医療の産業化をめぐる課題、再生医療用語ハンドブック (再生医療学会監修、岡野 光夫、浅島 誠 編集統括) pp. 294-297 (2015)、(株) メディカルトリビーン、東京
- 11) Kusakawa S, Machida K, Yasuda S, Takada N, Kuroda T, Sawada R, Okura H, Tsutsumi H, Kawamata S, Sato Y. Characterization of in vivo tumorigenicity tests using severe immunodeficient NOD/Shi-scid IL2R γ null mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. Regen Ther., in press.
- 12) Kono K, Takada N, Yasuda S, Sawada R, Niimi S, Matsuyama A, Sato Y. Characterization of the cell growth analysis for detection of immortal cellular impurities in human mesenchymal stem cells. *Biologicals.*, in press.
- 13) Tano K, Yasuda S, Kuroda T, Saito H, Umezawa A, Sato Y. A novel *in vitro* method for detecting undifferentiated human pluripotent stem cells as impurities in cell

- therapy products using a highly efficient culture system. *PLoS One*. 2014;9:e110496.
- 14) 佐藤陽治 再生医療と薬学 ファルマシア 2014;50:1213-5.
 - 15) 佐藤陽治 ヒト多能性幹細胞加工製品に残存する未分化多能性幹細胞の高感度検出法の開発 再生医療 2014;13:432-5.
 - 16) 村岡ひとみ, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療の規制動向とレギュラトリーサイエンス DDS. 2014;29:207-16.
 - 17) 中島啓行, 佐藤陽治 薬事法改正と再生医療等安全性確保法を踏まえた再生医療/細胞治療の開発 ファームステージ 2014;10:1-5.
 - 18) 三浦巧, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療に使用する細胞加工物の品質・安全性評価の原則と造腫瘍性の考え方 谷本学校毒性質問箱 2014;16:1-10.
 - 19) 佐藤陽治 再生医療/細胞治療における細胞培養に関する規制 『再生医療の細胞培養技術開発と応用展開』(監修: 紀ノ岡正博) 株式会社シーエムシー出版, 東京 (2014), pp. 27-36.
 - 20) 草川森士, 佐藤陽治 再生医療製品の造腫瘍性評価 最新医学 2014;69(3) 増刊号:745-765.
 - 21) 佐藤大作, 佐藤陽治 規制関連 『再生医療用語集』(印刷中)
 - 22) 村岡ひとみ, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療の臨床研究から実用化までの道のり *Geriatric Medicine (老年医学)* 2014;52(3):237-239.
 - 23) 佐藤陽治 ヒト iPS 細胞由来移植細胞中に混入する造腫瘍性細胞/未分化細胞の *in vitro* 検出法 *Cytometry Research* 2014;24(1): 7-11.
 - 24) 安田智, 佐藤陽治 再生医療製品の品質関連規制と対応の留意点 『動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術』(編集: 技術情報協会) 技術情報協会, 東京 (2014), pp. 517-22.
- 2) 早川堯夫: 適切な科学的規制による再生医療実用化促進. 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月20日)
 - 3) Takao Hayakawa: Aspects of Quality Evaluation and Control Corresponding to the Type of Cell-based Products for Regenerative Medicine. CMC Strategy Forum Japan 2014, December 8, 2014, Tokyo, JAPAN
 - 4) Takao Hayakawa: Challenges for developing a minimum consensus package plus case by case approaches for evaluating cell therapy products. IABS Tokyo 2015 meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], February 18-19th, 2015, Tokyo, Japan.
 - 5) Takao Hayakawa, Norihisa Sakamoto: Specifications. IABS Tokyo 2015 meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], February 18-19th, 2015, Tokyo, Japan.
 - 6) 森山麻里子, 宇田純輝, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. オートファジーと皮膚構築. 皮膚の会 (総会), Mar 15-16, 2014. 松山.
 - 7) 森山博由. 早川堯夫. 再生医療を照らす脂肪由来幹細胞の製造法と派生効果. 5/14~5/16, 2014, BIO tech 2014 -国際バイオテクノロジー展/技術会議-アカデミックフォーラム. 東京
 - 8) Moriyama Hiroyuki, Moriyama Mariko, Ueda Ayaka, Nishibata Yusuke, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. Role of notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 9) Uda Junki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Osawa Masatake, Hayakawa Takao. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 10) Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Sawaragi Kei, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. Development of a single tet-off lentiviral

G-2 学会発表

- 1) 早川堯夫: 科学的合理性に基づくバイオ医薬品開発のあり方について - 規制面からの視点、BIOJAPAN 2014、Oct.15, 2014、横浜.

- vector system with tightly regulated and homogeneous expression of target genes in human adipose-derived mesenchymal stem cells. June 18 – 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
- 11) Ohmori Shigenari, Taniguchi Yuki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Hayakawa Takao. Differentiation of dopaminergic neuronal cells from human adipose-derived multilineage progenitor cells. June 18 – 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 12) 大森重成、森山麻里子、谷口祐紀、深瀬堯哉、松山晃文、早川堯夫、森山博由。ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 13) 大森重成、森山麻里子、谷口祐紀、深瀬堯哉、松山晃文、早川堯夫、森山博由。ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 14) 河野真有香、森山麻里子、中北和樹、早川堯夫、森山博由。幹細胞資材におけるウイルス混入及び残存試験法確立を目的とした高感度・高精度な新規核酸増幅基盤技術開発。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 15) 谷口祐紀、森山麻里子、大森重成、早川堯夫、森山博由。キンドラー症候群患者由来ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)より樹立したiPS細胞の皮膚ケラチノサイトへの分化誘導法確立。2014年8月28~29日生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 16) 山田 翼、森山麻里子、宇田純輝、森山博由、早川堯夫。BCL-2ファミリー分子BNIP3が表皮分化および表皮形態維持に及ぼす影響。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 17) 百合祐樹、森山麻里子、森山博由、早川堯夫。新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在するOCT4陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか？。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 18) 石原慎、森山麻里子、阪口公一、石濱里穂、大倉華雪、松山晃文、早川堯夫、森山博由。低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の関係。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 19) 曾根千晶、森山麻里子、大倉華雪、松山晃文、早川堯夫、森山博由。新規ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたインスリン産生細胞の作製。2014年8月28~29日、生体機能と創薬シンポジウム2014。東大阪。
 - 20) Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mario Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaiech, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
 - 21) Mariko Moriyama, Junki Uda, Masatake Osawa, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Sept 11-15, 2014. European society for dermatological research (ESDR). Copenhagen, Denmark.
 - 22) Junki Uda, Mariko Moriyama, Masatake Osawa, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. Sept 22-26, 2014. Austrarian society for Dermatology Research (ASDR). Sydney, Australia.
 - 23) 宇田純輝、森山麻里子、北川綾弓、野村昇吾、早川堯夫、森山博由。Bcl-2ファミリー分子BNIP3が表皮構築に及ぼす影響。第64回日本薬学会近畿支部総会・大会。[口頭発表]10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都。
 - 24) 雨宮有佑、北野亮介、古谷圭史、村上健太、森山麻里子、早川堯夫、森山博由。日本の新薬承認格差の現状とその打開策についての検討。[ポスター発表]第6

- 4回 日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 25) 山田翼, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. BCL-2ファミリー分子BNIP3と表皮分化および形態維持機構との関連性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 26) 石原慎, 森山麻里子, 阪口公一, 上村充香, 大石実央, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の相関性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 27) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 28) 曾根千晶, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたインスリン産生細胞の作成. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 29) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 30) 道山 忠史, 森山 麻里子, 二宮 清文, Saowanee Chaipech, 村岡 修, 森川 敏生, 早川 堯夫, 森山 博由. 悪性黒色腫細胞に対する *Shorea roxburghii* 由来オリゴスチルベノイドの影響. 第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 31) 北野亮介, 雨宮有佑, 古谷圭史, 村上健太, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 再生医療製品実用化における規制制度の課題について. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 32) 野村昇吾, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. 表皮構築過程におけるFoxo3aの関与. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2014, 京都薬科大学, 京都.
- 33) 森山 麻里子, 宇田 純輝, 石濱 里穂, 大森 重成, 石原 慎, 曾根 千晶, 谷口祐紀, 百合 祐樹, 早川 堯夫, 森山 博由. 「贅肉は贅沢!? ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞の魅力」 【講演】 Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 34) 宇田 純輝, 森山 麻里子, 早川 堯夫, 森山 博由. オートファジー制御関連分子BNIP3は表皮分化ならびに表皮形態維持に重要な働きをする. [口頭発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸. [最優秀口頭発表賞受賞]
- 35) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 36) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 37) 百合祐樹, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在するOCT4陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか? [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 38) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology

- society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 39) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 40) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 41) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 42) Riho Ishihama, Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipetch^{1,2} and Toshio Morikawa. Inhibitory Effects of Oligostilbenoids from Bark of *Shorea roxburghii* on Malignant Melanoma Cell Growth: Implications for a Candidate of Novel Topical Anticancer Agents. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 43) Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Transdifferentiation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells into insulin-producing cells. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 44) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. [Oral presentation] The 39th annual meeting of the Japanese society for Investigative Dermatology. Dec 12-14, Expopark-Hankyu Osaka, Japan.
- 45) Mariko Moriyama. Hiroyuki Moriyama. Takao Hayakawa. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Looking to the future of Notch signaling. December 18th, 2014. Institute for Protein Research, Osaka University, Osaka, Japan.
- 46) Kiyofumi Ninomiya, Toshio Morikawa, Taku Matsumoto, Mayumi Sueyoshi, Seiya Miyazawa, Shunsuke Saeki, Saowanee Chaipetch, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Anti-inflammatory effects and mode of action of prenylcoumarins from Thai natural medicine *Mammea siamensis*. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 47) Toshio Morikawa, Ikuko Hachiman, Kiyofumi Ninomiya, Hisashi Matsuda, Yuki Hata, Kaoru Sugawara, Yuri Sakata, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Antiallergic principles from *Myristica fragrans*: inhibitors of degranulation and TNF- α release in RBL-2H3 cells. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 48) Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipetch, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 49) Kiyofumi Ninomiya, Toru Minamino, Kaiten Ozeki, Natsuko Matsuo, Chihiro Kawabata, Takao Hayakawa, Toshio Morikawa. Effects of constituents from hooks of *Uncaria rhynchophylla* on neurite outgrowth and TNF- α -induced cell damage. The 8th JSP-CCTCM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy, (Fukuoka, Japan), 2014.9.
- 50) 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 川真田伸, 佐藤陽治 軟寒天コロニー形成試

- 験を応用した再生医療製品に混在する悪性形質転換細胞の高感度検出法 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
- 51) 田埜慶子, 安田智, 黒田拓也, 梅澤明弘, 佐藤陽治 ヒト多能性幹細胞由来再生医療製品中に残存する未分化細胞をダイレクトに検出する方法の開発 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
- 52) 高田のぞみ, 河野健, 安田智, 澤田留美, 新見伸吾, 松山晃文, 佐藤陽治 細胞増殖特性を利用した不死化細胞検出試験法の性能評価 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
- 53) Sato Y. Tumorigenicity Tests for the Quality and Safety of Cell-Based Therapeutic Products. IABS Workshop, Tokyo (2015年2月18-19日)
- 54) Yasuda S. The New Japanese Regulatory Framework for Regenerative Medicine & Cell Therapy. World Stem Cell Summit 14, San Antonio (2014年12月3-5日)
- 55) 佐藤陽治 ヒト/動物細胞加工製品の品質確保に関する基本的考え方 レギュラトリーサイエンス学会シンポジウム～再生医療等製品の承認審査と再生医療新法～, 東京 (2014年11月25日)
- 56) 佐藤陽治 細胞技術の許認可の実情～再生医療に関する日本の新しい規制の枠組み～ 第36回日本バイオマテリアル学会大会, 東京 (2014年11月18日)
- 57) Kusakawa S, Yasuda S, Kuroda T, Kawamata S, Sato Y. A new soft agar colony formation assay based on high-content imaging for sensitive detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. Global Controls in Stem Cells, Singapore (2014年11月5-7日)
- 58) 佐藤陽治 ヒト由来移植細胞に混入する多能性幹細胞・造腫瘍性細胞の検出法の性能評価 第87回日本生化学大会, 京都 (2014年10月15-18日)
- 59) Kuroda T, Tachi S, Yasuda S, Kusakawa S, Sato Y. Profiling of Human Induced Pluripotent Stem Cell Lines for Predicting the Differentiation Propensity. International Society for Stem Cell Research 12th Annual Meeting, Vancouver (2014年6月18-21日)
- 60) Tano K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y. A highly efficient culture method for growth and detection of undifferentiated human pluripotent stem cells present as impurities in cell-processed therapeutic products. 20th International Society for Cellular Therapy, Paris (2014年4月23-26日)

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 取得特許

発明者 草川森士, 安田智, 佐藤陽治

出願人【識別番号】803000056

【名称】公益財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

特許出願番号 特願 2014-176861

特許出願日 平成 26 年 9 月 1 日

H-2. 実用新案登録

なし

H-3. その他

なし

H-3 その他

【政策への提言】

- 1) 「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて (平成 26 年 10 月 31 日医政研発 1031 第 1 号)

厚生労働省医政局研究開発振興課長
通知)

- 2) 生物由来原料基準の一部を改正する
件」(平成26年厚生労働省告示第375
号)；

表 1 : 本研究で用いたプライマー配列

target	Forward primer sequence (5'-3')	Reverse primer sequence (5'-3')
OCT4A	CGCAAGCCCTCATTTCAC	CATCACCTCCACCACCTG
NANOG	AGATGCCTCACACGGAGACT	TTTGCGACACTCTTCTCTGC
LIN28A	AGCGCAGATCAAAGGAGACA	CCTCTCGAAAGTAGGTTGGCT
AFP	AGTGAGGACAACTATTGGCCT	ACACCAGGGTTTACTGGAGTC
FOXA2	GCGACCCCAAGACCTACAG	GGTTCTGCCGGTAGAAGGG
ALB	GAGACCAGAGGTTGATGTGATG	AGTTCCGGGGCATAAAAAGTAAG
NKX2.5	CGGTTGGAAGTGGGACTG	GACGGCGAGATAGCAAAGG
KRT14	CATGAGTGTGGAAGCCGACAT	GCCTCTCAGGGCATTTCATCTC
IVL	TCCTCCAGTCAATACCCATCAG	GCAGTCATGTGCTTTTCCTCTTG
SPRR2A	TCTGCCTTGGAGAACCTGAT	ACATGGCTCTGGGCACTTT
NES	GGCGCACCTCAAGATGTCC	CTTGGGGTCCTGAAAGCTG
NEFM	GAGTGGTTCAAATGCCGCTAC	CTCTAGCTCGATGCTCTTGGA
TUBB3	GGCCAAGGGTCACTACACG	GCAGTCGCAGTTTTCACACTC
ACTB	CATGTACGTTGCTATCCAGGC	CTCCTTAATGTCACGCACGAT
UBE2D2	TGGCAAGCTACAATAATGGGG	GGAGACCACTGTGATCGTAGA

健常ヒト由来 iPS #7



皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

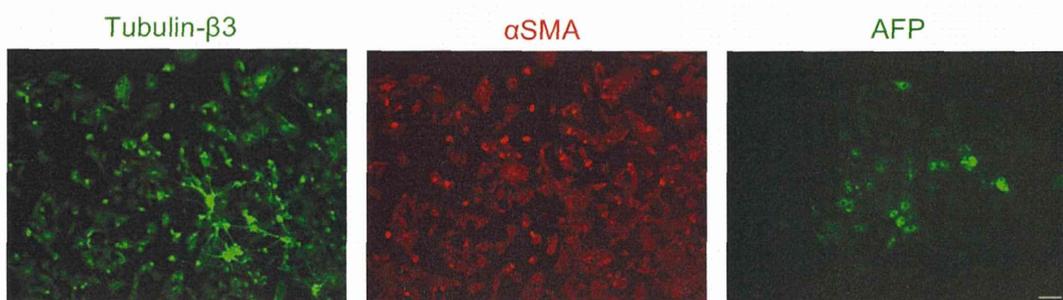
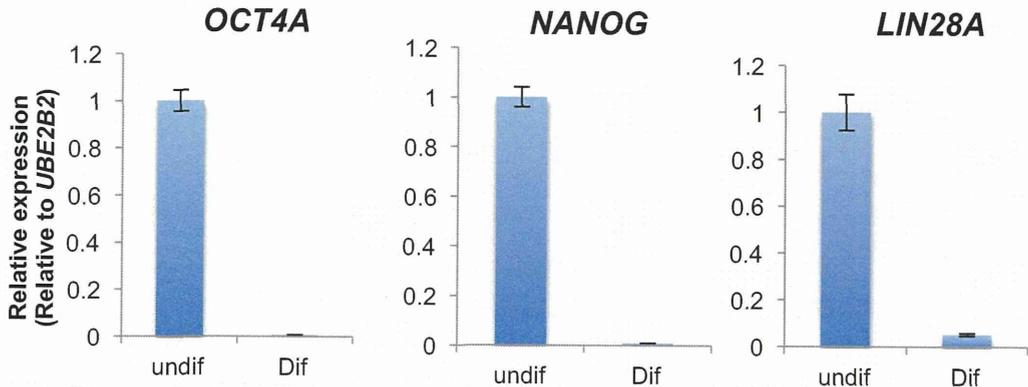


図1：本研究で作製した代表的な iPS の三胚葉系への分化能

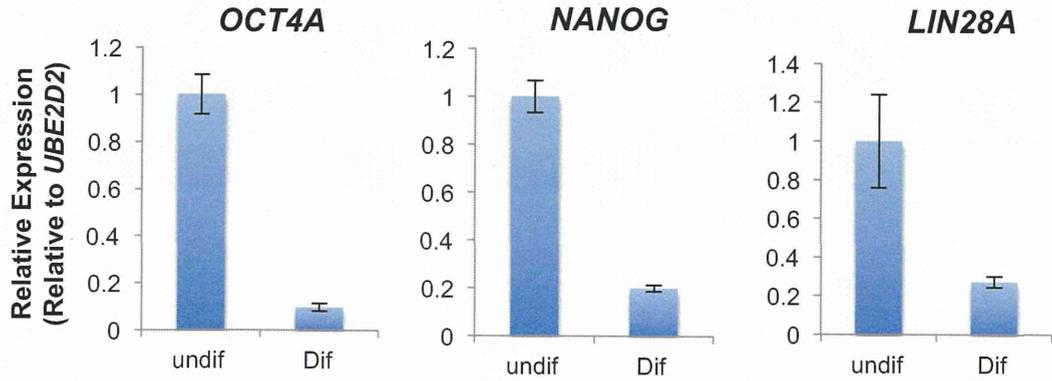
(上) 健常ヒト由来 iPS #7 を胚様体から分化させ、Tubulin-β3 (外胚葉)、αSmooth Muscle Actin (αSMA; 中胚葉)、αFetoprotein (AFP; 内胚葉) の発現を免疫染色により確認した。

(下) 皮膚疾患ヒト由来 iPS #1 を胚様体から分化させ、Tubulin-β3 (外胚葉)、αSmooth Muscle Actin (αSMA; 中胚葉)、αFetoprotein (AFP; 内胚葉) の発現を免疫染色により確認した。

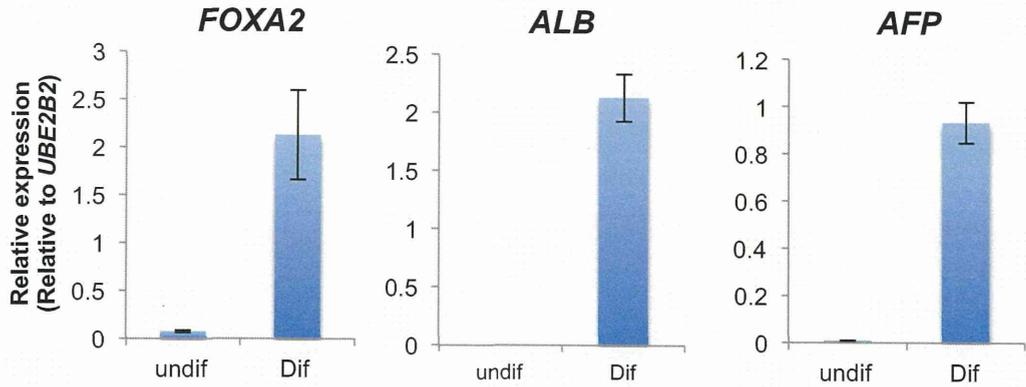
A 健康ヒト由来 iPS #7



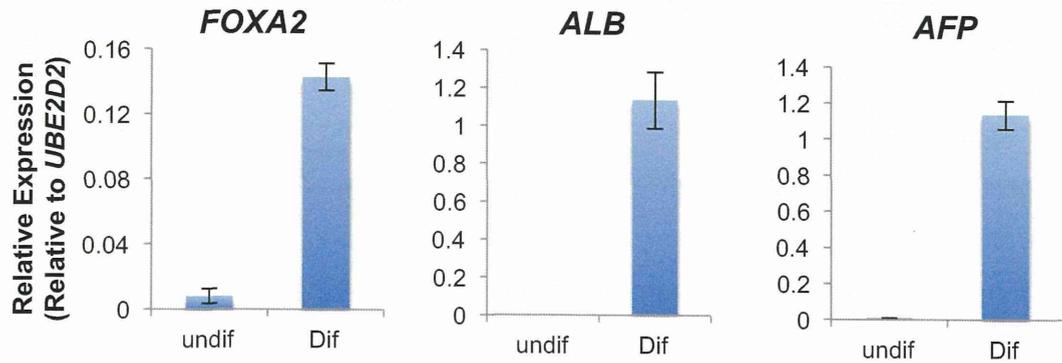
皮膚疾患ヒト由来 iPS #1



B 健康ヒト由来 iPS #7

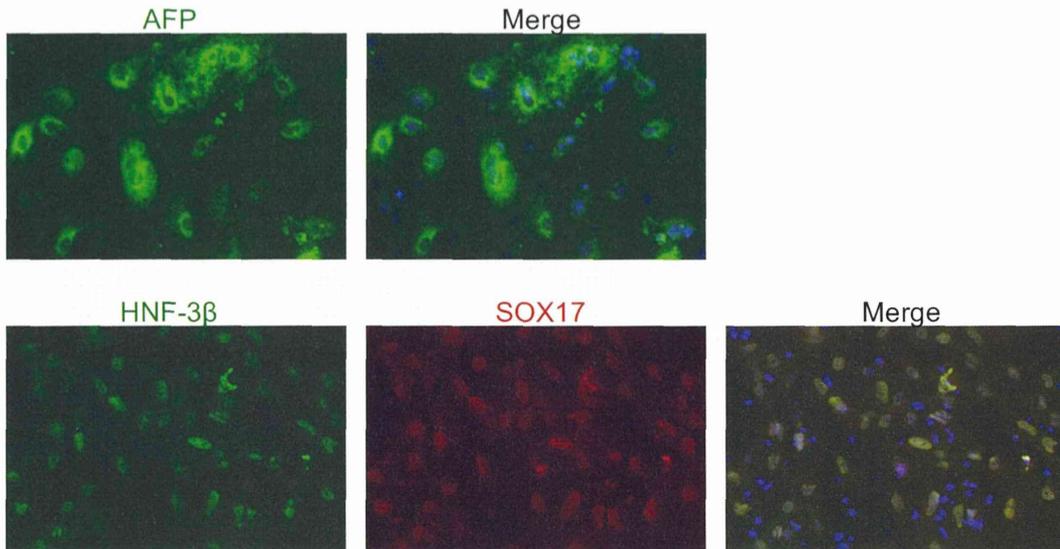


皮膚疾患ヒト由来 iPS #1



C

健常ヒト由来 iPS #7



皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

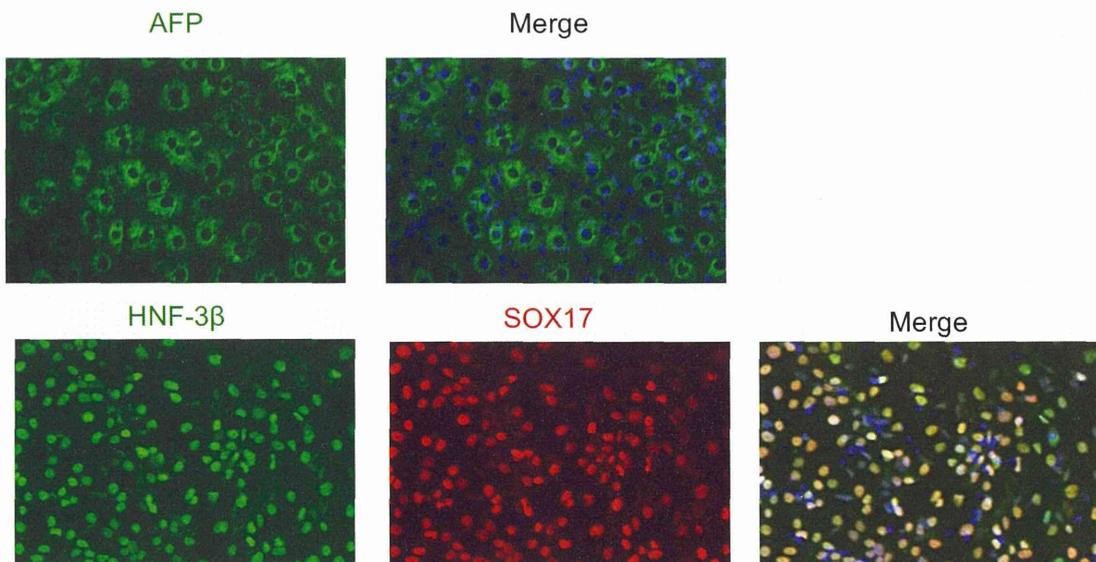


図 2： 作製した iPS 細胞の肝細胞への分化誘導

(A) 分化誘導した細胞における *OCT4A*, *NANOG*, *LIN28A* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

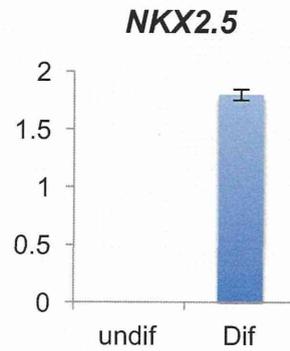
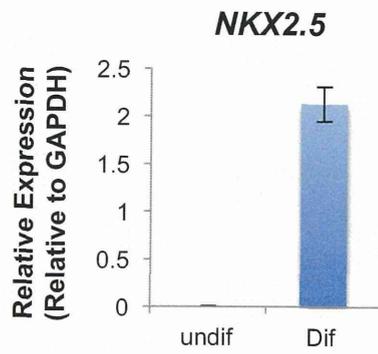
(B) 分化誘導した細胞における *FOXA2*, *ALB*, *AFP* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

(C) 分化誘導した細胞における AFP, HNF-3 β , SOX17 の発現を免疫染色法にて確認した。青は核 (DAPI) を示す。

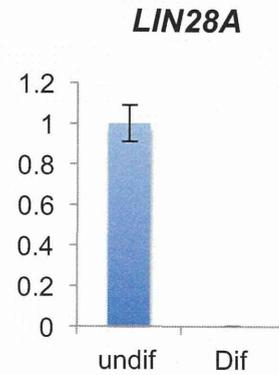
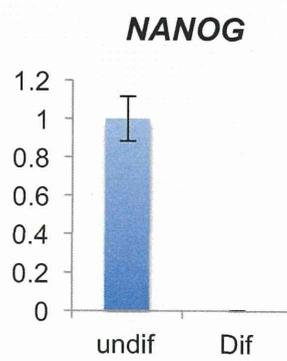
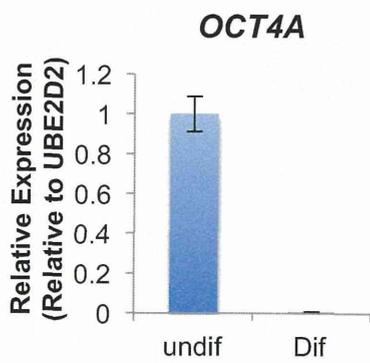
A

健康ヒト由来 iPS #7

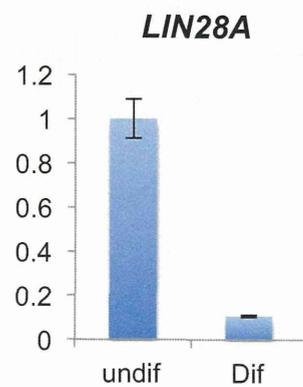
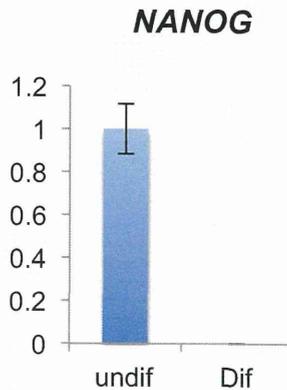
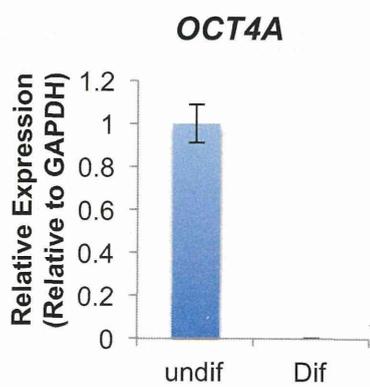
皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

**B**

健康ヒト由来 iPS #7

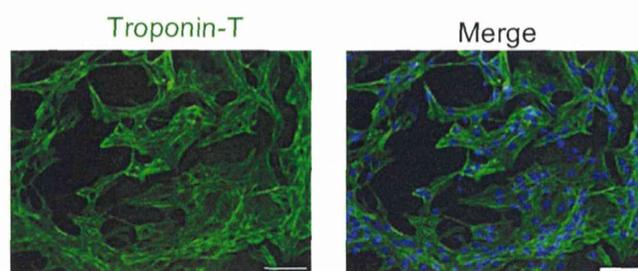


皮膚疾患ヒト由来 iPS #1



C

健常ヒト由来 iPS #7



皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

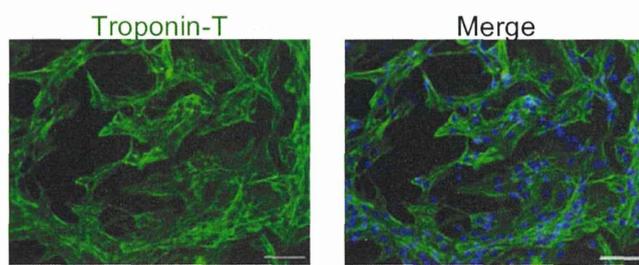
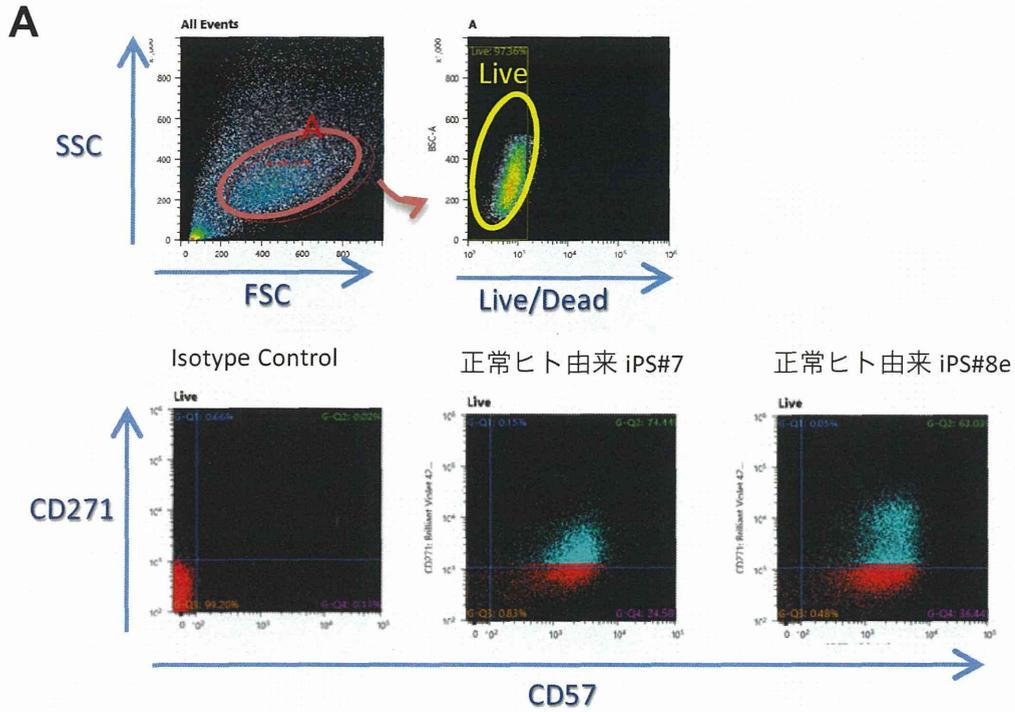


図 3： 作製した iPS 細胞の心筋細胞への分化誘導

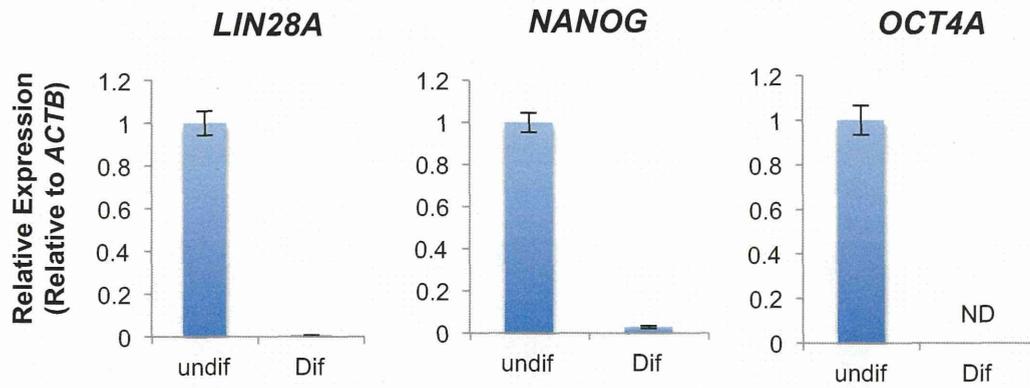
(A) 分化誘導した細胞における *NKX2.5* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

(B) 分化誘導した細胞における *OCT4A*, *NANOG*, *LIN28A* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

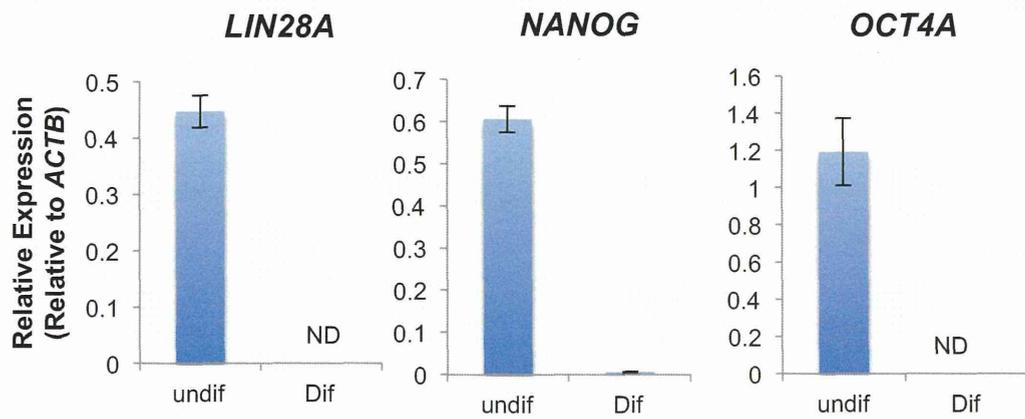
(C) 分化誘導した細胞における Troponin-T の発現を免疫染色法にて確認した。青は核 (DAPI) を示す。



B 健常ヒト由来 iPS #7

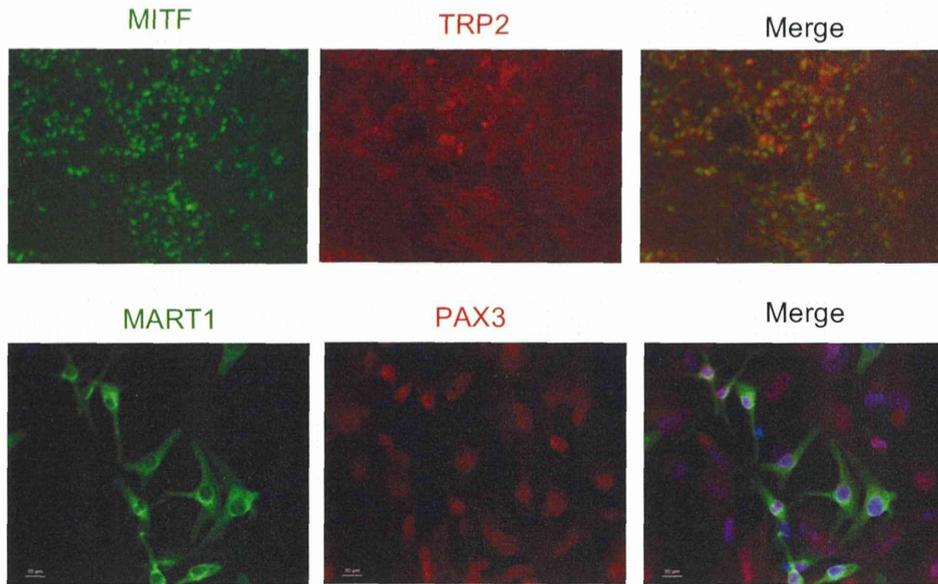


健常ヒト由来 iPS #8

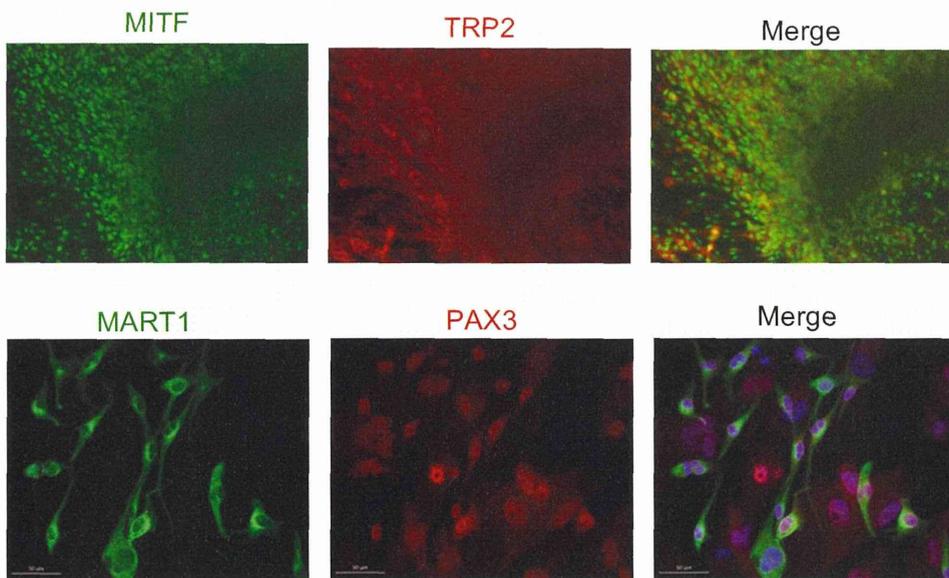


C

健常ヒト由来 iPS #7



健常ヒト由来 iPS #8



D



図4：作製した iPS 細胞のメラノサイトへの分化誘導

(A) 分化誘導した 11 日目の細胞における CD271 (NGFR/p75), CD57 (HNK1) の発現をフローサイトメトリー法にて確認した。

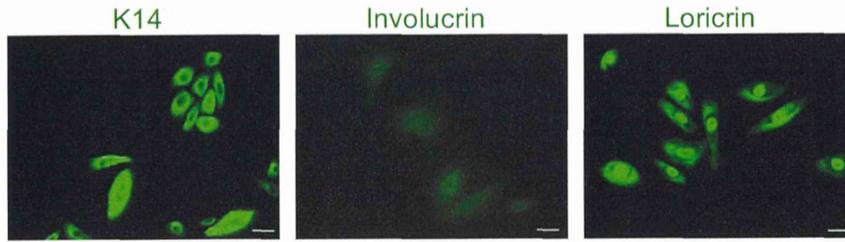
(B) 分化誘導した 26 日目の細胞における *OCT4A*, *NANOG*, *LIN28A* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

(C) 分化誘導した細胞における MITF (緑), DCT (赤), MART1(緑) , PAX3(赤) の発現を免疫染色法にて確認した。青は核 (DAPI) を示す。

(D) 分化誘導した細胞のメラニン産生を示す。

A

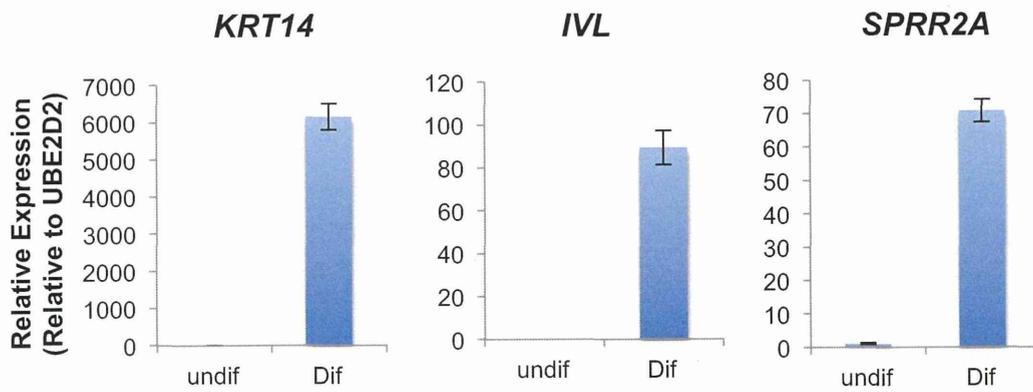
健康ヒト由来 iPS #7



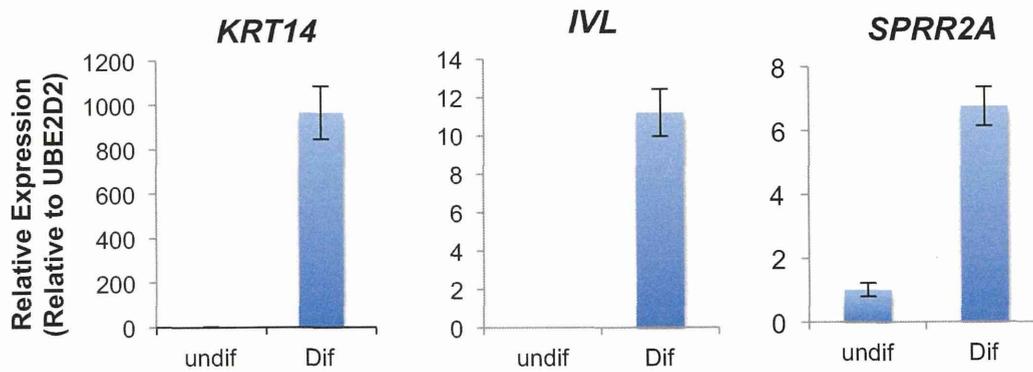
皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

**B**

健康ヒト由来 iPS #7

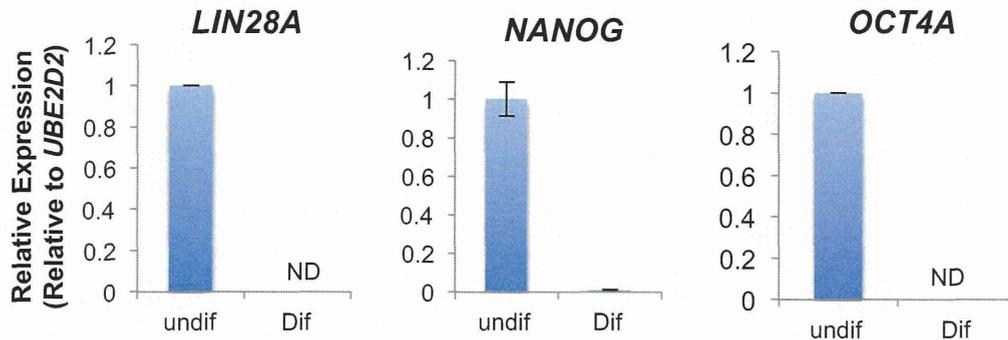


皮膚疾患ヒト由来 iPS #1



C

健常ヒト由来 iPS #7



皮膚疾患ヒト由来 iPS #1

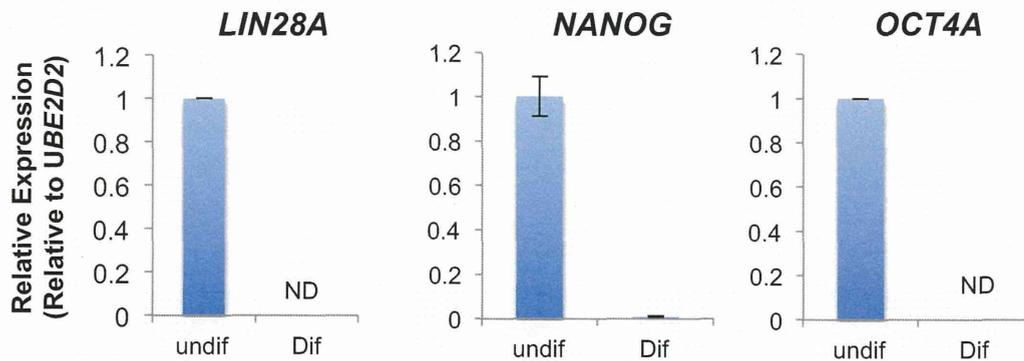


図 5：作製した iPS 細胞のケラチノサイトへの分化誘導

(A) 分化誘導した 30 日目の細胞における Keratin 14 (K14)、Involucrin、Loricrin の発現を免疫染色法にて確認した。

(B) 分化誘導した 30 日目の細胞における *KRT14*, *IVL*, *SPRR2A* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

(C) 分化誘導した 30 日目の細胞における *LIN28A*, *NANOG*, *OCT4A* 遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

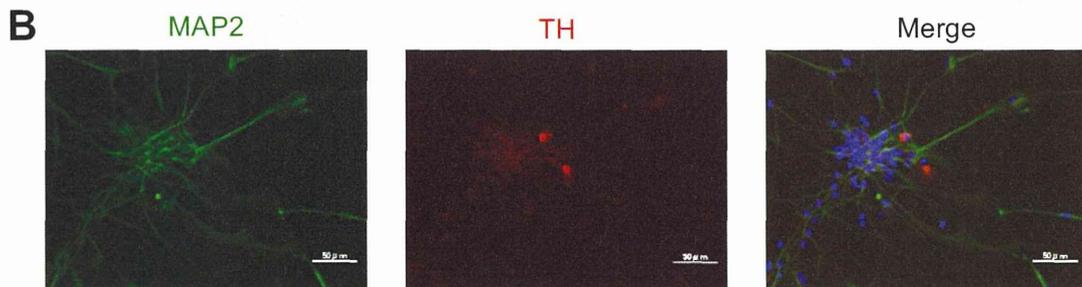
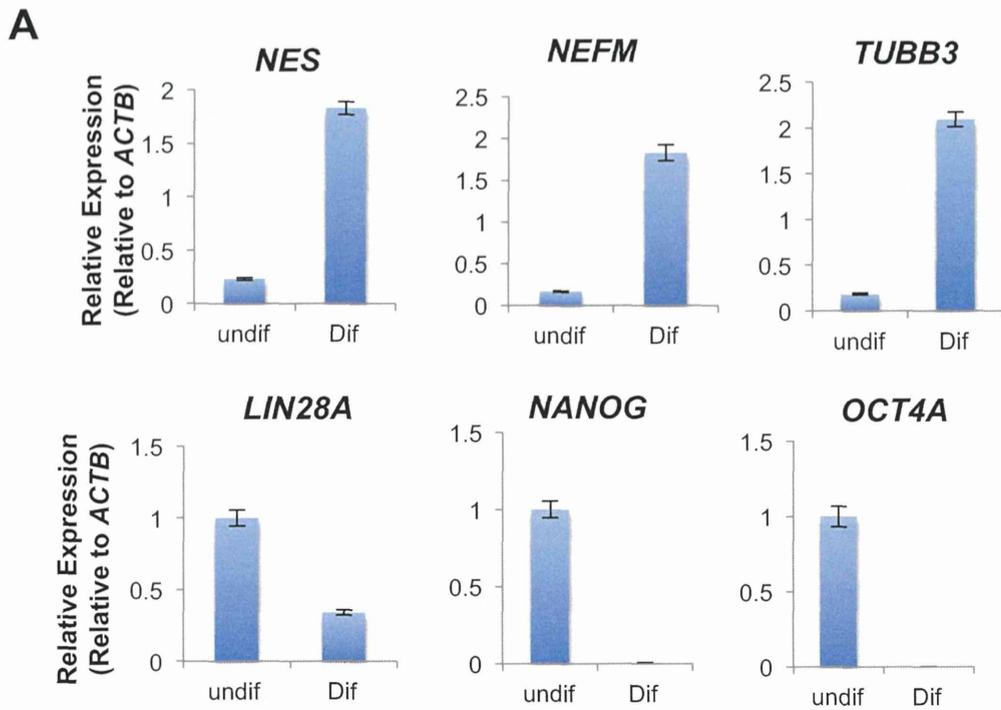


図6：作製した iPS 細胞の神経細胞への分化誘導

(A) 分化誘導し、増殖させた神経幹細胞における *NES*, *NEFM*, *TUBB3*, *LIN28A*, *NANOG*, *OCT4A* の発現を定量的 PCR 法にて確認した。

(B) 分化誘導した神経幹細胞をさらにドパミン産生細胞へと分化誘導し、免疫染色法で MAP2 (緑)、チロシン水酸化酵素 (TH; 赤) の発現を確認した。青は核 (DAPI) を示す。

表2 ヒト iPS 細胞移植試験で用いたヒト iPS 細胞株

iPS 細胞株名	由来細胞	導入遺伝子	導入方法
253G1	皮膚線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4</i>	レトロウイルスベクター
HiPS-RIKEN-2A	臍帯由来線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	レトロウイルスベクター
409B2	皮膚線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, l-Myc Lin28, p53shRNA</i>	エピソーマルベクター
Human mc-iPS	脂肪幹細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Nanog, Lin28</i>	プラスミドベクター
201B7	皮膚線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	レトロウイルスベクター
HiPS-RIKEN-1A	臍帯由来線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	レトロウイルスベクター
HiPS-RIKEN-12A	臍帯由来線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4</i>	レトロウイルスベクター
ATCC-DYR0100 hiPSc	皮膚線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	レトロウイルスベクター
ATCC-HYR0103 hiPSc	肝線維芽細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc</i>	レトロウイルスベクター
454E2	歯髄細胞	<i>Oct3/4, Sox2, Klf4, l-Myc Lin28, p53shRNA</i>	エピソーマルベクター